

ARTIFICIAL SKIN

Publication number: JP5184661 (A)

Publication date: 1993-07-27

Inventor(s): KOIDE MIKIO; MATSUI RISAKO +

Applicant(s): TERUMO CORP +

Classification:

- International: A61F13/00; A61L27/00; A61L27/60; A61F13/00; A61L27/00; (IPC1-7): A61F13/00; A61L27/00

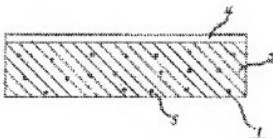
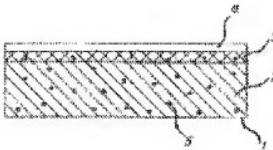
- European: A61L27/60

Application number: JP19910261753 19911009

Priority number(s): JP19910261753 19911009

Abstract of JP 5184661 (A)

PURPOSE: To provide an artificial skin which protects a skin damage part softly without drying, and replaces the part with the own tissue easily, when the skin is damaged. CONSTITUTION: A damage contact layer 2 which consists of a matrix of a denatured collagen including 0 to 80% of fibrous collagen and helix, a holding layer 3 which consists of a fabric collagen matrix with a crosslinking structure, and a steam permeation control layer 4 are laminated in order, so as to form an artificial skin 1, and a phosphoric acid ester of ascorbic acid is contained in at least either one layer. Consequently, a close adhesive property to the damaged part is improved, it can be replaced with the own tissue easily, and furthermore, after maintaining it for a specific period, a sublayer skin graft of the own body can be planted alive.



.....
Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-184661

(43)公開日 平成5年(1993)7月27日

(51)Int.Cl.⁵
A 61 L 27/00
A 61 F 13/00

識別記号 庁内整理番号
C 7180-4C
3 0 5 7108-4C

F I

技術表示箇所

(21)出願番号

特願平3-261753

(22)出願日

平成3年(1991)10月9日

(71)出願人

000109543
テルモ株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号

(72)発明者

小出 祐夫
神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地
テルモ株式会社内

(72)発明者

松井 理佐子
神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地
テルモ株式会社内

(74)代理人

弁理士 八田 韶雄 (外2名)

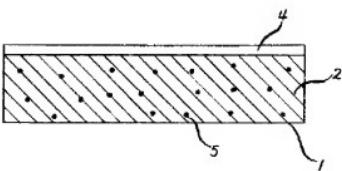
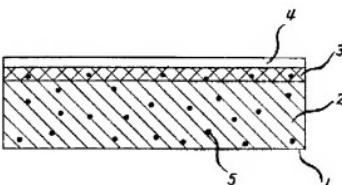
(54)【発明の名称】 人工皮膚

(57)【要約】

【目的】 皮膚が損傷を受けた際、該皮膚損傷部を乾燥させず柔らかく保護し、早期に自己の組織と置換する人工皮膚を提供する。

【構成】 線維化コラーゲンおよびヘリックス含量が0~80%である変性コラーゲンのマトリックスからなる創傷接着層と、架橋構造を有する線維化コラーゲンマトリックスからなる支持層と、水蒸気透過調節層とが順次積層されており、少なくともいずれか1層がアスコルビン酸リシン酸エチルを含んでいる人工皮膚である。

【効果】 創傷部への密着性を良好にし、早期に自己の組織に置換され、さらに一定の期間保持した後、自家の分層植皮が生着することができる人工皮膚である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 線維化コラーゲンおよびヘリックス含量が0～80%である変性コラーゲンのマトリックスからなる創傷接触層と、架橋構造を有する線維化コラーゲンマトリックスからなる支持層と、水蒸気透過調節層とが順次積層されてなり、少なくともいずれか1層がアスコルビン酸リン酸エステルを含んでいる人工皮膚。

【請求項2】 線維化コラーゲンとヘリックス含量が0～80%である変性コラーゲンとアスコルビン酸リン酸エステルとからなるマトリックスの支持層とその上に積層された水蒸気透過調節層とからなることを特徴とする人工皮膚。

【請求項3】 前記変性コラーゲンの含有比が、全体の5～30重量%である請求項1または2に記載の人工皮膚。

【請求項4】 前記アスコルビン酸リン酸エステルの含有比が、全体の0.1～10重量%である請求項1または2に記載の人工皮膚。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規な人工皮膚に関する。さらに詳述すれば本発明は、創傷、熱傷などにより皮膚が損傷を受けた際、該皮膚損傷部に適用され、該皮膚損傷部を乾燥させ柔らかく保護し、早期に自己の組織と置換する人工皮膚に関する。

【0002】

【従来の技術】熱傷、採皮創、皮膚剥離創または外傷性皮膚欠損創等の疾患ないし創傷による患部を保護し、治癒を促進する目的のために、患部に一時に適応する創傷被覆材として、従来、ガーゼ、脱脂綿等が用いられていたが、これは細菌感染防止性が低く、かつ滲出液を速やかに吸収するために創面が乾燥してしまい取りはずす際に痛み、出血等を伴うものであった。

【0003】また、これらに代わるものとして、特に創面が広範囲にわたる場合に適用されるものとして、シリコーン製ガーゼ、シリコーンゴム製およびペロアー状の表面構造を有するナイロン、テフロンなどの合成繊維シート等の人工材料の被覆膜や、凍結乾燥豚皮、フィブリン膜、コラーゲン膜、ポリアミノ酸スポンジ、ムコ多糖類複合コラーゲン膜等の生体由来材料の被覆膜も知られている。しかしながら、これらのうち人工被覆膜は患部との密着性、水蒸気透過性、ひび割れ等の点で種々の問題を残すものであり、一方、生体由来材料の被覆膜は生体適合性等の特徴を有するが、多くは抗原性を有し、また細菌感染、滲出液による劣化などの欠点を持ち、さらには原料が入手しにくい等の問題もあった。

【0004】さらに最近では、上記問題点を解決する方法としてコラーゲン処理されたナイロンミッシュとシリコーン膜からなる複合膜が開発され、一部実用化されている。該複合膜は、創面によく密着し、適度な水分通過

性を有するが、創面に固着し、肉芽組織が被覆膜中に入り込むという欠点があった。

【0005】また同様に、上記問題点を解決する方法としてコラーゲンを用いた人工材料が開発されている。一般にコラーゲン自体は生体由来材料であるため、細胞、組織に対する親和性が大きく、生体適合性に優れ好適な材料であることは前述したとおりであるが、反面、コラーゲンは生体内で容易に分解、吸収される欠点を有するものである。そこで人工材料としてコラーゲンを利用するにあたっては適当な方法で架橋を導入し、物性面の強化を図る工夫が成されたものが用いられている。該架橋法としては、加熱による脱水架橋、薬品を用いる化学架橋等を採用したもののが開発されている。このうち熱脱水架橋は薬品処理に比べ安全性が高いが、物理的にコラゲナーゼ、酵素に対する耐性が化学的架橋に対し低いため、通常、化学架橋を熱架橋と併用せたり、または化学的架橋単独で用いる方法が選択されている。こうした架橋を導入したコラーゲンを用いた人工材料の場合、上記以外に物性面で品質が差し向上的等の優れた効果を奏するものである。例えば110°Cの温度で真空中に2.4時間熟成して熱的不完全橋を導入した場合、該人工材料の換体ではコラゲナーゼ3 unit/m1中に37°C下で静置すると1日以内に該人工材料中のコラーゲンが溶解するのに対し、イソシアネート系の薬品を用いた化学的架橋のみを施した該人工材料の換体ではコラゲナーゼ1000 unit/m1中に37°C下で7日経過しても形態に変化が見られない。しかしながら、前記人工材料を人工皮膚として使用する場合、強固な架橋を導入する等、導入前にコラーゲンが有していた細胞、組織に対する親和性が大幅に低下し、コラーゲンマトリックス内にマクロファージ、好中球などの炎症性細胞や、線維芽細胞はほとんど侵入しないまま、再生表皮のいわゆるdown growthにより、マトリックスが排除される欠点を有する。一方、細胞侵入性の良好なコラーゲン変性コラーゲンマトリックスを形成してなる前記コラーゲンを用いた人工材料も開発されており、早期に好中球やマクロファージが侵潤し、さらに線維芽細胞が侵入することができる。しかしながら該人工材料では開放創と同様に創取縮を生じる欠点を有している。つまり、これらの人工材料においては、物性面の強化と細胞、組織に対する親和性という生物学的性能の向上とは両立が困難な相反する事象であり、双方を満足する創傷被覆材あるいは人工皮膚の出現が強く望まれていた。

【0006】現在までに、上記の問題点を解決する方法として、細胞侵入性の良好なコラーゲンマトリックス層である創傷接触層と架橋を十分に施したコラーゲンの支持層と、水蒸気透過調節層からなる3層構造の人工皮膚が本開発者らにより開発されている(特開平2-34165号)。この人工皮膚は動物実験では創面に適用された際に線維芽細胞が早期に創傷接触層に侵入し、真皮様

の結合組織を構築するので創傷の治癒が促進されてなるものである。この人工皮膚を広範囲の熱傷創や広範囲の皮膚欠損部位に適用する場合、表皮の伸展等に限度があるため、治癒するのに非常に時間がかかる欠点を有していた。しかし、この欠点に関しては、一般に劇場で行われている分層植皮を併用することが可能であり、ある一定の期間上記の人工皮膚を移植した後、水蒸気透過調節層と架橋を十分に行なった支持層を剥がし、分層植皮を行うと生着することができ、該方法により上記欠点を補うことができ広範囲の欠損部位に適用することも一定条件下で可能ではある。しかし、この方法では分層植皮の移植時期が選べると、コラーゲンが徐々に分解することから、新たに創面の拘縮がおこるため、自己のコラーゲン線維の産生が必要となってくる等の課題を有しております、なお完全なものとすることはできず、これらの問題点を十分に解決してなる創傷被覆材および人工皮膚は今だ得られないのが現状である。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】したがって、本発明の目的は、(1) 創部に適度に密着して感染、痛みの防止を図り、(2) 創面に適度な温りを与えるために、適度な水蒸気透過性と滲出液吸収性を有し、(3) 早期に自己の良好な肉芽組織が再生され、(4) 体液中のタンパク質成分の漏出を防止し、(5) 原料が容易に入手でき、製造が容易であるとする要件を満たす人工皮膚を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記諸目的を解決すべく観察検討した結果、細胞侵入性の良好なコラーゲン-変性コラーゲンマトリックスによる創傷部接觸層がコラーゲンを骨格として、変性コラーゲンを熱的な脱水架橋により結合させた人工皮膚により、上記目的が達成されることを知り、この見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0009】すなわち、本発明は、(1) 線維化コラーゲンおよびヘリックス含量が0~80%である変性コラーゲンのマトリックスからなる創傷接觸層と、架橋構造を有する線維化コラーゲンマトリックスからなる支持層と、水蒸気透過調節層とが順次積層されており、少なくともいざれか1層がアスコルビン酸リノ酸エステルを含んでいる人工皮膚によって達成される。

【0010】本発明はまた、(2) 線維化コラーゲンとヘリックス含量が0~80%である変性コラーゲンとアスコルビン酸リノ酸エステルとからなるマトリックスの支持層とその上に積層された水蒸気透過調節層とからなることを特徴とする人工皮膚によって達成される。

【0011】本発明はさらに、(3) 前記変性コラーゲンの含有比が、全体の5~30重量%である上記(1)または(2)に記載の人工皮膚によても達成される。

【0012】本発明はさらにまた、(4) 前記アスコル

ビン酸リノ酸エステルの含有比が、全體の0.1~1.0重量%である上記(1)または(2)に記載の人工皮膚によても達成される。

【0013】

【作用】本発明の実施態様に基づき詳細に説明する。

【0014】図1は本発明の人工皮膚の一実施態様の概構造を示す拡大断面図である。図1に示すように本発明の人工皮膚1には、創傷部に接触し得る部位が細胞侵入性の良好なコラーゲン-変性コラーゲンマトリックス層からなる創傷部接觸層2、該創傷部接觸層2に隣接してなる支持層3、および水蒸気透過調節層4とアスコルビン酸を含むものである。

【0015】ここで創傷部接觸層2が細胞侵入性を有するものとは、該人工皮膚1が創傷部に適用された際に、マクロファージや好中球の炎症性の細胞が温潤し、早期に線維芽細胞が侵入し、その結果、真皮様の結合組織が再構築されることである。

【0016】また創傷部接觸層2で使用する変性コラーゲンは、コラーゲンを加熱処理、化学処理または物理処理等により行なうことができ、特に加熱処理による熱変性処理等最も好ましい。コラーゲンの変性度は、ヘリックス構造の含量によって示される。ここでヘリックス(構造の)含量とは、分子的にコラーゲンに特有な三重螺旋ヘリックスの含量のことであり、変性コラーゲンは、このヘリックス含量がランダムコイル化しているために、ヘリックス含量がコラーゲンの変性度に対応するものである。このヘリックス構造の含量は円偏光二色性または赤外分光光度計で測定することができる(P.L.Gordon,I.V.Yan nas, et al. Macromolecules, 7(6) 954(1974)、奈倉、橋本ら、高分子論文集, 41(8) 473(1984))。ここで用いられるコラーゲンの変性度の指標、すなわち、ヘリックス含量は、0~80%、好ましくは0~50%、より好ましくは30~50%である。例えば、コラーゲン溶液を60°C、30分間熱処理するとヘリックス含量は約40%であり、100°C、24時間熱処理するとヘリックス含量は0%となることから電気泳動によりコラーゲン分子の一部が切断されていることがわかる。使用するコラーゲンは、抗原性的発現抑制の面から抗原決定基が酵素で除去されたアテロコラーゲンが望ましく、アテロコラーゲンを分散状でそのまま用いると、架橋導入を行なって物性が余り向上しないので、アテロコラーゲンは37°Cで中和処理(リン酸系の緩衝液を用いる)を施し、生体内にあるような周期性線維構造を持つ線維化アテロコラーゲンの形にすることがさらに好ましい。

【0017】本発明の人工皮膚1中の変性コラーゲンの含有比は、全體の5~30重量%、より好ましくは1.0~20重量%である。

【0018】さらに水蒸気透過調節層4を設けることにより、適度な水蒸気透過を行ない、創面に滲出液が貯留せず、かつ創面が温潤に保たれた状態とし、一方滲出液

中のタンパク質成分の外部への漏出は防止され、組織の修復に極めて好ましい環境を与えることになる。

【0019】本発明に用いられるアスコルビン酸5はビタミンCとも呼ばれており、分子内にエンジオール基を持ち、そのために反応性に富み、容易に酸化されてデヒドロアスコルビン酸となる。アスコルビン酸5の生理活性は、今日なお不明瞭な点が多いが、現在最も明らかになっている作用としてコラーゲンの生成と維持に必要なことが挙げられる。しかし、アスコルビン酸5は中性溶液中37°Cで酵素存在下では、非常に不安定であったが、L-アスコルビン酸リシン酸エステルはコラーゲン合成のコファクター活性を持ち、また生理性下でも安定であることが分かっているものである。

【0020】また本発明に用いられるアスコルビン酸5の含有量は、全体の0.1~10重量%が好ましく、より好ましくは0.5~2重量%である。

【0021】本発明において、アスコルビン酸、特に活性持続型のあるL-アスコルビン酸リシン酸エステルを含有することは、自己のコラーゲン線維の産生を促進することができる。

【0022】 【実施例】

実施例1 アスコルビン酸含有の線維化アテコラーゲン-変性アテロコラーゲン混合溶液の調製

アテロコラーゲン（株式会社高研製）を4°Cの温度下で、pH3.0の希塩酸に溶解して0.3~0.4w/v%に調製した。この溶液を0.8μmおよび0.2μmの直径の空孔を持つ2種のフィルターに順次通過して汎過滅菌した後、4°Cに維持しつつ搅拌しながらpH7.4のリン酸緩衝液を加え、最終濃度が0.1~0.15w/v%アテロコラーゲン（30mMリシン酸ナトリウム、100mM塩化ナトリウム）であるコラーゲン溶液とした。次いで37°Cの恒温槽内に4時間放置し、線維化アテロコラーゲン（以下、F1Cと記す）溶液を調製した。そして該F1C溶液を無菌条件下で遠心操作による濃縮を行ない、濃度を4w/v%に調製した。一方、フィルターを順次通過させた0.3~0.4w/v%のアテロコラーゲン溶液を凍結乾燥し、再び無菌の蒸留水に6.6w/v%となるよう再溶解し、これを60°Cの恒温槽内に30分間放置して熱変性を生ぜしめ変性アテロコラーゲン（以下、HACと記す）溶液とした。該HAC溶液を37°Cの温度条件下で0.45μmの直径の空孔を持つフィルターを通して汎過滅菌した後、上述の4w/v%F1C溶液に対し、HAC/(F1C+HAC)=0.1となるように混合し、さらにL-アスコルビン酸リシン酸エステル（和光純薬株式会社製）を最終濃度が1mMになるように添加し、十分搅拌して、アスコルビン酸含有の線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲン混合溶液を調製した。

【0023】実施例2 線維化アテロコラーゲンマトリ

ックスの熱脱水架橋

実施例1と同様な方法で調製した0.3w/v%のF1C溶液を-30°Cで急速冷却した後、凍結乾燥を行ないスポンジを作製した。さらにこのスponジを0.05Torr未満の真空中で1時間保持し、さらに110°Cに温度を上げ、24時間真空中に保ち、その後温度を室温まで下げ、試料を取り出し、架橋した線維化アテロコラーゲンスponジを得た。

【0024】実施例3 人工皮膚の作製

実施例1で調製したアスコルビン酸含有の2w/v%線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲン混合溶液をステンレスパッドに注入し、さらに実施例2で調製した架橋した線維化アテロコラーゲンマトリックスのスponジをゆっくりのせると、スponジは溶液の上層部に浮く。この状態で-30°Cに急速冷却して、十分凍結させた後、-40°Cで0.1Torr未満の真空中で凍結乾燥すると、線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲンからなる二重構造のスponジが得られた。次にテフロン上に6.7%Silasticシリコン接着剤型A（Dow Corning社製）のヘキサン溶液を精密被覆用具（アブリケーター）を用いて塗布し製膜した。塗布した直後に上記のスponジを線維化アテロコラーゲンマトリックスがシリコン側になるようにのせ、室温で10分程放置した後、60°Cで少なくとも1時間オープンで硬化させた。さらに110°Cに温度を上げ、4時間真空中に保ち、その後室温まで下げ、試料を取り出して人工皮膚を得た。

【0025】実施例4 人工皮膚の作製

実施例1で調製したアスコルビン酸含有の4w/v%線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲン混合溶液をステンレスパッドに注入し、-30°C以下に急速冷却して十分凍結させた後、-40°Cで0.1Torr未満の真空中で凍結乾燥されることにより、線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲンのマトリックスが得られた。次にテフロン平板上に7%のメディカルグレードサイラスティックスシリコン（ダウコーニング株式会社製、接着シリコンタイプA）のヘキサン溶液を精密被覆用具（アブリケーター）を用いて塗布して製膜し、塗布した直後に、その潤滑層上に上記の線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲンマトリックスを載せ、室温で10分間放置した後、60°Cで少なくとも1時間、オープンで硬化させた。さらに0.05Torr未満の真空中で1時間保持し、110°Cに温度を上げ4時間真空中に保ち、その後温度を室温まで下げるにより、人工皮膚を得た。

【0026】試験 人工皮膚のラット皮膚欠損創への移植試験

上記実施例3および4で得られたマトリックスをラットの背部皮膚に移植して試験した。Wistar-KYラット（200~400g）をネンプタール麻酔下で徐毛

し、イソジン消毒したラット背部皮膚に皮下筋膜を創面とする $20 \times 20\text{ mm}$ の全創皮膚欠損創を作製し、止血、乾燥した後、生食を含ませた検体を貼付した。シリコーン膜辺縁を縫合糸で 16 ヶ所結紮固定した。その上にソルフレン（テルモ株式会社製）を 4 枚重ね、さらにエラスチコン等の伸縮性絆創膏で绷巻きにし、圧迫固定した。移植後、実施例 3 で作製した人工皮膚では 1 週間後、実施例 4 で作製した人工皮膚では 2 週間後に、上層部のシリコーンを剥がし、線維化アテロコラーゲン-変性アテロコラーゲン層上に自家の分層植皮片を移植して、さらに 4 週間観察した。肉眼による観察では、取扱はあまり見られず、植皮した分層植皮片が離脱していないかった。病理組織学的にも、人工皮膚を使用して再生された真皮様組織と生着した分層植皮片はよく密着しており、人工皮膚内には細胞組織が多く認められた。

【0027】

【発明の効果】本発明の人工皮膚は、細胞侵入性材料によって形成された創傷接着層と、架橋構造を有する線維化コラーゲンマトリックスからなる支持層と、水蒸気透過調節層とが依次積層され、少なくともいわゆる層に活性持続型のある L-アスコルビン酸リノ酸エステルを含有している人工皮膚または線維化コラーゲンとヘリッ

クス含量が 0~80%である変性コラーゲンとのマトリックスに活性持続型のある L-アスコルビン酸リノ酸エステルを含有している創傷接着層と水蒸気透過調節層とが積層されている人工皮膚であり、創傷、熱創、褥瘡等により皮膚が損傷を受けた際に、損傷面に適用され、真皮成分の欠損部位に使用することができます。

【0028】さらに本発明の人工皮膚は、創傷接着面が細胞侵入性を有するので、創面に適用された際に線維芽細胞が早期に創傷接着層に侵入し、真皮様の結合組織を構築するので創傷の治癒が促進され、さらに移植して一定の期間保持した後、上層の水蒸気透過調節層を剥がして、自家の分層植皮片を移植しても生着することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の人工皮膚の実施態様の歎組な構造を示す断面図である。

【符号の説明】

- 1…人工皮膚
- 2…細胞侵入性支持層
- 3…耐コラゲナーゼ性支持層
- 4…水蒸気透過調節層
- 5…アスコルビン酸リノ酸エステル

【図1】

